

ได้ทำการสร้างหีดยุคผสมระหว่างหีดหอมกับหีดขอนแก่น หีดหอมกับหีดบด และหีดขอนแก่นกับหีดบดด้วยวิธีดั้งเดิม (conventional method) แบบ mon-mon mating และ di-mon mating จากสายพันธุ์โมโนคาร์บอนที่ทราบ mating type และสายพันธุ์ไคคาร์บอน แล้วคัดเลือกฟิวแซนท์จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ MES6 และ MPS19 เป็นฟิวแซนท์จากวิธี mon-mon mating ที่เกิดจากหีดหอมที่มี mating type เป็น  $A_2B_1$  กับหีดขอนแก่นที่มี mating type เป็น  $A_1B_2$  และหีดบดที่มี mating type เป็น  $A_2B_1$  กับหีดขอนแก่นที่มี mating type เป็น  $A_1B_2$  ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์ที่เกิดจากวิธี di-mon mating ได้แก่ DES1 DES7 และ DES5 เป็นฟิวแซนท์ที่เกิดจากหีดหอมสายพันธุ์ไคคาร์บอนกับหีดขอนแก่นที่มี mating type เป็น  $A_1B_1$ ,  $A_2B_2$ ,  $A_1B_2$  และสายพันธุ์ DPS8, DPS14 และ DPS12 เป็นฟิวแซนท์ที่เกิดจากหีดบดสายพันธุ์ไคคาร์บอนกับหีดขอนแก่นที่มี mating type เป็น  $A_1B_1$ ,  $A_2B_2$  และ  $A_1B_2$  ตามลำดับ จากนั้นได้ตรวจสอบความเป็นลูกผสมเปรียบเทียบกับหีดหอม หีดขอนแก่น และหีดบด โดยใช้ฐานวิทยาศาสตร์และเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล 2 วิธี ได้แก่ 1) วิธี PCR ของ rDNA โดยใช้ไพรเมอร์ 3 คู่คือ ITS1 กับ ITS2, ITS1 กับ ITS4 และ ITS3 กับ ITS4 2) วิธี Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragment Length Polymorphisms (PCR/RFLP) ของดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่าง internal transcribed spacer (ITS) ร่วมกับการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 7 ชนิด ได้แก่ *HinfI*, *DdeI*, *Sau3AI*, *EcoRI*, *HindIII*, *HaeII* และ *HaeIII* ผลการตรวจสอบทางฐานวิทยาศาสตร์พบว่าฟิวแซนท์ MES6, DES7 และ DPS12 มีลักษณะเด่นของหีดหอมกับหีดขอนแก่น และหีดขอนแก่นกับหีดบดชัดเจน ส่วนผลจากวิธีที่ 2 ตรวจพบความเป็นลูกผสมได้ 5 สายพันธุ์ จากคู่ไพรเมอร์ ITS1 กับ ITS4 คือฟิวแซนท์ MES6 เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Sau3AI* ฟิวแซนท์ DES1 เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *EcoRI* ฟิวแซนท์ DPS12 เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *EcoRI* และจากคู่ไพรเมอร์ ITS3 กับ ITS4 คือฟิวแซนท์ DES7 เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *Sau3AI* และฟิวแซนท์ DPS8 เมื่อตัดด้วยเอนไซม์ *HinfI* และ *HaeIII* แต่การตรวจสอบด้วยเทคนิคดีเอ็นเอทั้ง 2 วิธีสามารถยืนยันความเป็นลูกผสมตรงกัน 2 สายพันธุ์คือ MES6 และ DES7 และฟิวแซนท์ MPS19, DES5 และ DPS12 มีดีเอ็นเอของหีดขอนแก่นมากกว่าหีดหอมและหีดบด

Hybridization between *Lentinula edodes*, *Lentinus squarrosulus* and *L. polychrous* were performed by the conventional methods of Mon-mon Mating and Di-mon Mating using known mating typed monokaryotic strains and dikaryons of the three species. Eight fusants were selected and of which MES6 ( $A_2B_1$  *L. edodes* and  $A_1B_2$  *L. squarrosulus*) and MPS19 ( $A_2B_1$  *L. polychrous* and  $A_1B_2$  *L. squarrosulus*) were from Mon-mon Matings, while DES1, DES7, DES5, DPS8, DPS14 and DPS12 were from Di-mon Matings.

Two methods of hybridization detection were studied. In the morphological studies, fruiting bodies of all the 8 fusants along with those of their parents were cultured on saw dust plastic bags and the results were that MES6, MES7 and DPS12 possessed combined characteristics of their parents. When two molecular biological methods (1. PCR of rDNA using 3 pairs of primers: ITS1 V.S. ITS2, ITS1 V.S. ITS4 and ITS3 V.S. ITS4 and 2. PCR/RFLP of internal transcribed spacer DNA) were studied, the results were that MES6, DES1, DES7 DPS8 and DPS12 showed hybrid DNA parents when ITS1 V.S. ITS4 plus *Sau3AI*, ITS1 V.S. ITS4 plus *EcoRI*, ITS3 V.S. ITS4 plus *Sau3AI* and ITS3 V.S. ITS4 plus *HinfI* and *HaeIII*, were used, respectively. In addition, it was found that most of the hybrids possessed more DNA of *L. squarrosulus* than those of *L. edodes* and *L. polychrous*.